



دانشگاه گیلان

اثر هورمون ملاتونین بر کیفیت اسپرم قوچ تالشی در داخل و خارج فصل تولیدمثل

سمیه قیامی^۱، مهرداد محمدی^{۲*}، محمد روستائی علی‌مهر^۲، فریدون طالبی^۳

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان، رشت، ایران

۲- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان، رشت، ایران

۳- کارشناس ارشد سازمان جهاد کشاورزی استان گیلان، رشت، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۳/۳/۲۰ - تاریخ پذیرش: ۹۴/۲/۱۹)

چکیده

در این تحقیق به منظور بررسی اثر ملاتونین (رگولین) روی کیفیت اسپرم قوچ تالشی در داخل و خارج فصل تولیدمثل، ۹ راس قوچ تالشی با میانگین سنی ۳ سال و میانگین وزنی $55/6 \pm 1/57$ کیلوگرم به طور تصادفی انتخاب و به سه تیمار تقسیم شدند. قوچ‌های گروه اول (شاهد) رگولین دریافت نکردند، قوچ‌های گروه دوم یک عدد رگولین و گروه سوم همزمان دو عدد رگولین به صورت زیر جلدی دریافت کردند. در روز صفر آزمایش (روز کاشت رگولین)، اندازه دور بیضه (SC)، حجم و غلظت منی، تحرک و زنده‌مانی اسپرم قوچ‌های همه تیمارها اندازه‌گیری شد. اندازه دور بیضه ۴۵ روز بعد از کاشت رگولین و حجم و غلظت منی و همچنین تحرک پیشرونده و زنده‌مانی اسپرم در روزهای ۴۶، ۵۰، ۵۴ و ۵۸ بعد از کاشت رگولین مجدداً اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد استفاده از رگولین در فصل تولیدمثل اثر معنی‌داری روی SC و عوامل کیفی و کمی اسپرم نداشت ($P > 0/05$). کارگذاری دو عدد رگولین در خارج فصل تولیدمثل سبب افزایش SC و تحرک پیشرونده اسپرم شد ($P < 0/05$)، در حالیکه استفاده از رگولین اثر معنی‌داری روی حجم منی و غلظت اسپرم نداشت ($P > 0/05$). بر اساس نتایج این تحقیق می‌توان گفت کارگذاری همزمان دو عدد رگولین خارج از فصل تولیدمثل باعث بهبود کیفیت منی قوچ تالشی شد.

واژه‌های کلیدی: داخل و خارج از فصل تولیدمثل، قوچ تالشی، کیفیت اسپرم، ملاتونین

مقدمه

در عرض‌های جغرافیایی متوسط مانند ایران (علیجانی، ۱۳۷۴)، تغییرات فصلی فعالیت‌های تولیدمثلی، عامل محدودکننده‌ی مهم برای صنعت تولید و پرورش گوسفند محسوب می‌شود (Faigl *et al.*, 2009). اگرچه عوامل تولیدمثلی قوچ نسبت به میش کمتر تحت تاثیر تغییرات فصلی قرار می‌گیرند، اما در مطالعات مختلف تغییرات فصلی در حجم بیضه، ترشح هورمون‌ها، رفتارهای جنسی و کیفیت منی گزارش شده است که این تغییرات، عملکرد تولیدمثلی قوچ‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهند (Casao *et al.*, 2010b). تغییرات فصلی تولیدمثل به واسطه تغییرات هورمونی، تحت تاثیر اثرات محیطی قرار می‌گیرند. اثر محیطی که بیشترین اهمیت را در گوسفند دارد، فتوپریود است. فتوپریود از طریق یک مسیر عصبی-هورمونی سبب تنظیم سطح ملاتونین خون می‌شود (Faigl *et al.*, 2009). در حقیقت ملاتونین میانجی اثر فتوپریود روی دستگاه تولیدمثلی قوچ است (Kaya *et al.*, 2000). سنتز و ترشح ملاتونین از غده‌ی پینه‌آل تحت تاثیر میزان نور که به وسیله یک برنامه زمان‌سنجی شبانه‌روزی با منشاء داخلی انجام می‌شود تنظیم می‌گردد. در سیکل تشعشع روشنایی- تاریکی، سطح بالای از این هورمون در طول دوره‌ی تاریکی و سطح پایینی از آن در طول دوره‌ی روشنایی ترشح می‌شود (Zarazaga *et al.*, 2009). این هورمون به طور طبیعی داخل و خارج فصل تولیدمثل ترشح می‌شود اما میزان ترشح آن، خارج فصل تولیدمثل به شدت کاهش می‌یابد (Casao *et al.*, 2010a). تغییرات فصلی ترشح ملاتونین، سبب ایجاد تفاوت‌های کیفیت منی و باروری مشاهده شده بین داخل و خارج فصل تولیدمثل می‌شود (Casao *et al.*, 2010b). به طوری که عملکرد تولیدمثلی قوچ در فصل تولیدمثل حداکثر و خارج فصل تولیدمثل در حداقل است (سوخته‌زاری و همکاران، ۱۳۸۷). در واقع اثرات تحرکی روزهای کوتاه یا ملاتونین درمانی خارج فصل تولیدمثل روی عملکرد تولیدمثلی قوچ، به علت اثر تنظیم‌کنندگی ملاتونین روی محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-بیضه‌ای، تشدید ترشح ضربان‌دار GnRH، گونادوتروپین‌ها و تستوسترون است (Casao *et al.*, 2010a). شاید بتوان با استفاده از ملاتونین عملکرد جنس نر را خارج از فصل تولیدمثل بهبود بخشید. به همین دلیل بعضی از محققین ملاتونین کاشتنی را خارج

از فصل تولیدمثل برای افزایش توان تولیدمثل قوچ توصیه می‌کنند (سوخته‌زاری و همکاران، ۱۳۸۷). ملاتونین درمانی داخل فصل تولیدمثل نیز به منظور بهبود بیشتر عملکرد تولیدمثلی قوچ بکار برده می‌شود (Ramadan *et al.*, 2009). از آنجائیکه تاکنون هیچگونه تحقیقی در این زمینه روی قوچ نژاد تالشی صورت نگرفته، لذا این تحقیق به منظور بررسی اثر استفاده از ملاتونین بر کیفیت و کمیت اسپرم تولیدی داخل و خارج از فصل تولیدمثل قوچ نژاد تالشی انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

این تحقیق، اوائل پاییز (داخل فصل تولیدمثل) و اوائل بهار (خارج فصل تولیدمثل) روی ۹ راس قوچ بالغ نژاد تالشی (با میانگین سن ۳ سال و میانگین وزن $55/6 \pm 1/57$ کیلوگرم) انجام شد. قوچ‌ها به شکل کاملاً تصادفی انتخاب و در قالب طرح کاملاً تصادفی به ۳ تیمار تقسیم شدند. برای قوچ‌های گروه اول (شاهد) ملاتونین استفاده نشد (C)، برای قوچ‌های گروه دوم یک عدد رگولین حاوی ۱۸ میلی‌گرم ملاتونین (Sava Pars, Iran) (R1) و برای قوچ‌های گروه سوم همزمان دو عدد رگولین (R2) پس از ضدعفونی پوست در ناحیه قاعده گوش کار گذاشته شد. هر سه گروه از تغذیه و مدیریت یکسان برخوردار بودند. در روز صفر آزمایش (روز کاشت رگولین)، اندازه‌گیری‌های مربوط به دور بیضه (SC)^۱ و شاخص‌های کمی و کیفی اسپرم صورت گرفت (اندازه‌گیری مرحله اول). بعد از کاشت هورمون، قوچ‌های تحت مطالعه، در شرایط طبیعی روشنایی روز و شب نگهداری شدند و تا پایان مراحل آزمایش بجز زمان اسپرم‌گیری به دور از میش بودند. قوچ‌ها به آب و لیسیدنی‌های معدنی به‌صورت آزادانه دسترسی داشتند و به طور جداگانه جیره استاندارد (NRC, 1985) دریافت کردند. در زمان اسپرم‌گیری قوچ‌ها علاوه بر جیره معمولی، روزانه ۳۰۰ گرم دانه جو دریافت کردند. ۴۵ SC روز بعد از کاشت رگولین و حجم و غلظت منی و همچنین تحرک پیشرونده و زنده‌مانی اسپرم در روزهای ۴۶، ۵۰، ۵۴ و ۵۸ بعد از کاشت رگولین مجدداً اندازه‌گیری شد (اندازه‌گیری مرحله دوم). اندازه‌گیری SC با استفاده از نوارمتر انجام شد. منی قوچ‌ها با استفاده از مهبل مصنوعی

¹ Scrotal Circumference

روش تجزیه و تحلیل آماری

این تحقیق، داخل و خارج از فصل تولیدمثل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار انجام شد. متغیرهای مورد اندازه-گیری عبارت بودند از: SC، حجم منی، غلظت، میزان تحرک پیشرونده و زنده‌مانی اسپرم. برای مقایسه نتایج، شاخص تغییر صفت به صورت زیر محاسبه شد:

اندازه صفت در روز کاشت رگولین - میانگین اندازه صفت در روزهای ۵۰، ۴۶، ۵۴ و ۵۸ بعد از کاشت رگولین = شاخص تغییر صفت

جهت تجزیه داده‌های طرح از رویه GLM نرم افزار SAS (1996) و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

نتایج

نتایج این تحقیق نشان داد، استفاده از رگولین داخل فصل تولیدمثل اثر معنی‌داری روی SC و عوامل کیفی و کمی اسپرم نداشت ($P > 0.05$) (جدول ۱). خارج فصل استفاده از دو عدد رگولین تولیدمثل، SC و تحرک پیشرونده اسپرم را به طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد افزایش داد ($P < 0.05$)، در حالیکه استفاده از یک و دو عدد رگولین اثر معنی‌داری روی حجم منی و غلظت اسپرم نداشت ($P > 0.05$) (جدول ۲).

جمع‌آوری و پس از یادداشت حجم و ارزیابی ظاهری منی از داخل لوله مدرج مهبل مصنوعی، بلافاصله به آزمایشگاه انتقال داده شد. جهت تعیین غلظت اسپرم از لام هموسایتومتر استفاده شد. بدین منظور، با استفاده از پیپت مخصوص، اسپرم اخذ شده با آب به نسبت ۱ به ۲۰۰ رقیق شد و بعد از آن یک قطره از اسپرم رقیق شده روی لام قرار گرفت و شمارش اسپرم‌ها زیر میکروسکوپ با بزرگنمایی ۴۰۰ انجام پذیرفت (Evans and Maxwell, 1987). برای اندازه‌گیری حرکت پیش رونده اسپرم، یک قطره منی رقیق شده با سرم فیزیولوژی (به نسبت ۱ به ۲۰۰) را روی لام گرم ۳۷ درجه سانتیگراد گذاشته و با قرار دادن لام روی آن، در زیر میکروسکوپ با بزرگنمایی ۴۰۰ ارزیابی صورت گرفت (Evans and Maxwell, 1987). برای مشخص نمودن درصد اسپرم‌های زنده و مرده، رنگ‌آمیزی ائوزین-نگروزین انجام شد که پس از تهیه گسترش و مشاهده در زیر میکروسکوپ، اسپرم‌های زنده بدون رنگ و اسپرم‌های مرده به رنگ قرمز یا صورتی مشاهده شدند (Bjorndahl et al., 2003).

جدول ۱- نتایج داخل فصل تولیدمثل

Table 1. Results of in-breeding season

	Differentiation index of semen volume (mL) (stage 2* - stage 1 ⁺)	Differentiation index of sperm concentration (1×10^9 /mL) (stage 2 - stage 1)	Differentiation index of sperm motility (%) (stage 2 - stage 1)	Differentiation index of sperm viability (%) (stage 2 - stage 1)	Differentiation index of scrotal circumference (cm) (stage 2 - stage 1)
C	0.1 (1.2-1.1)	-0.26 (4.30-4.56)	-0.8 (82.5-83.3)	0.1 (87.4-87.3)	1.0 (35.2-34.2)
R1	0 (1.1-1.1)	-0.2 (3.35-3.55)	-0.9 (85.8-86.7)	0.2 (85.2-85.0)	1.9 (31.7-29.8)
R2	0.1 (1.1-1.0)	-0.2 (4.03-4.23)	0.9 (84.2-83.3)	-0.2 (88.5-88.7)	1.6 (35.0-33.4)

C: Control; R1: Rams received one regulin; R2: Rams received two regulins.

⁺Measurement of reproductive characteristics on day of regulin implantation.

*Measurement of reproductive characteristics on 46, 50, 54 and 58 days after regulin implantation (Mean).

جدول ۲- نتایج خارج فصل تولیدمثل

Table 2. Results of out-breeding season

	Differentiation index of semen volume (mL) (stage 2* - stage 1 ⁺)	Differentiation index of sperm concentration (1×10^9 /mL) (stage 2- stage 1)	Differentiation index of sperm motility (%) (stage 2- stage 1)	Differentiation index of sperm viability (%) (stage 2- stage 1)	Differentiation index of scrotal circumference (cm) (stage 2- stage 1)
C	-0.1 (0.8-0.9)	-0.62 (4.74-5.36)	-6.40 ^b (83.6-90.0)	-1.60 (75.1-76.7)	0.5 ^b (32.3-31.8)
R1	-0.1 (0.7-0.8)	-0.01 (3.92-3.93)	-1.90 ^{ab} (88.1-90.0)	-0.60 (84.4-85.0)	1.8 ^{ab} (30.0-28.2)
R2	0 (0.7-0.7)	-2.01 (4.39-6.4)	5.00 ^a (85.0-80.0)	10.00 (85.5-75.0)	3.0 ^a (32.9-29.9)

C: Control; R1: Rams received one regulin; R2: Rams received two regulins.

⁺Measurement of reproductive characteristics on day of regulin implantation.

*Measurement of reproductive characteristics on 46, 50, 54 and 58 days after regulin implantation (Mean).

^{ab}Different superscripts in each column indicate significant differences ($P < 0.05$)

بحث

موفقیت روش‌های عملی کنترل تولیدمثل در گوسفند بستگی زیادی به کیفیت منی دارد (Kaya et al., 2000). تولیدمثل و به طور مشخص تولید منی در قوچ تحت تأثیر عوامل بسیاری از جمله نژاد، سن، اقلیم (طول روز، دما و رطوبت هر اقلیم) و مدیریت قرار دارد که باعث تغییرات شدید در آن می‌شود (طباطبایی و همکاران، ۱۳۸۶). در این میان اثر محیطی که بیشترین اهمیت را دارد، فتوپریود است (Faigl et al., 2009). بطور کلی اثر عامل فتوپریود بر فعالیت تولیدمثل قوچ مانند میش بوده ولی میزان این اثر به مراتب کمتر از میش است، به طوری که فعالیت تولیدمثل آنها هرگز متوقف نمی‌شود، گرچه این میزان در فصل تولیدمثل بیشتر از خارج فصل تولیدمثل است (سوخته‌زاری و همکاران، ۱۳۸۷). اثرات مهاری و تحریکی فتوپریود روی فعالیت بیضه از طریق ملاتونین میانجی‌گری می‌شود (Kaya et al., 2000). میزان ترشح ملاتونین به علت تغییرات فتوپریود در طول سال، تغییرات فصلی نشان می‌دهد به طوری که میزان ترشح ملاتونین داخل فصل تولیدمثل بالاتر از خارج فصل تولیدمثل است (Casao et al., 2010a). تغییرات فصلی ترشح ملاتونین، سبب ایجاد تفاوت‌های کیفیت منی و باروری مشاهده شده بین داخل و خارج فصل تولیدمثل می‌شود (Casao et al., 2010b). استفاده از ملاتونین کاشتنی خارج فصل تولیدمثل می‌تواند اثر روز کوتاه (داخل فصل تولیدمثل) را

تقلید کند و اثر مهاری فتوپریود را روی عوامل تولیدمثل قوچ حذف کرده یا کاهش دهد (Kaya et al., 2000). نتایج این تحقیق نشان داد، استفاده از ملاتونین کاشتنی داخل فصل تولیدمثل اثر معنی‌داری روی حجم منی، غلظت، زنده‌مانی و تحرک پیشرونده اسپرم نداشت. گزارش شده است استفاده از ملاتونین کاشتنی در فصل تولیدمثل اثر معنی‌داری روی حجم منی، غلظت، زنده‌مانی و تحرک اسپرم قوچ‌های نژاد کونیا مرینو نداشت که با نتیجه این تحقیق مطابقت دارد (Kaya et al., 2000). استفاده از یک و دو عدد ملاتونین در فصل تولیدمثل SC را نسبت به گروه شاهد افزایش داد، اما این اثر معنی‌دار نبود. ملاتونین درمانی بزهای دمشقی متعاقب درمان با دوره‌ی نوردهی بلند داخل فصل تولیدمثل روی حجم نسبی بیضه اثر معنی‌داری نداشت (Ramadan et al., 2009). بررسی اثر فصل روی اندازه بیضه و رفتارهای جنسی بزهای نر مدیترانه‌ای نشان داد در این نژاد حداکثر قطر بیضه طی روزهای بلند سال بدست می‌آید و طول روز تنها عامل محیطی موثر در تغییرات اندازه بیضه نیست. عامل محیطی دیگری که با فصل تغییر می‌کند درجه حرارت محیط است. همچنین سطوح تغذیه‌ای و تفاوت‌های نژادی نیز در این امر موثرند (Roca et al., 1991). استفاده از دو عدد ملاتونین کاشتنی در خارج از فصل تولیدمثل زنده‌مانی اسپرم را نسبت به گروه شاهد افزایش داد، اما این اثر معنی‌دار نبود. تحقیقات نشان داد استفاده از یک عدد ملاتونین کاشتنی در خارج فصل تولیدمثل اثر

معنی‌داری روی زنده‌مانی اسپرم قوچ‌های نژاد کونیا مرینو نداشت (Kaya et al., 2000). سوخته‌زاری و همکاران (۱۳۸۷) گزارش کردند استفاده از سه عدد ملاتونین کاشتنی در خارج فصل تولیدمثل اثر معنی‌داری روی زنده‌مانی اسپرم قوچ‌های نژاد شال نداشت. همچنین گزارش شده است ملاتونین درمانی بزهای دمشق متعاقب درمان با دوره‌ی نوردهی بلند در خارج فصل تولیدمثل زنده‌مانی اسپرم را به طور معنی‌داری افزایش داد (Ramadan et al., 2009).

استفاده از دو عدد رگولین در خارج از فصل تولیدمثل باعث افزایش معنی‌دار تحرک پیشرونده اسپرم نسبت به گروه شاهد شد. استفاده از یک عدد ملاتونین کاشتنی در خارج فصل تولیدمثل تحرک اسپرم قوچ‌های نژاد کونیا مرینو را به طور معنی‌داری افزایش داد (Kaya et al., 2000). استفاده از سه عدد ملاتونین کاشتنی در خارج فصل تولیدمثل تحرک پیشرونده اسپرم قوچ‌های نژاد راسا آراگونزا را به طور معنی‌داری افزایش داد که دلیل افزایش تحرک پیشرونده اسپرم، اثر مستقیم ملاتونین روی اسپرماتوزوای قوچ و تغییرات ترشح گنادوتروپین‌ها (افزایش ترشح FSH) بعد از کاشت ملاتونین عنوان شد (Casao et al., 2010c). استفاده از ملاتونین کاشتنی غلظت تستوسترون را افزایش می‌دهد. تستوسترون تولید شده به وسیله آنزیم آروماتاز به استروژن متابولیزه می‌شود. به نظر می‌رسد استروژن، تحرک اسپرم انزالی را تنظیم کند (Kaya et al., 2000). بنابراین این احتمال وجود دارد که تغییرات مشاهده شده در تحرک اسپرم قوچ‌های تحت درمان با ملاتونین کاشتنی، به علت افزایش مقطعی تولید استروژن از تستوسترون به وسیله آنزیم آروماتاز باشد (Casao et al., 2010a). در تحقیقات Ramadan et al. (2009) با ملاتونین درمانی بزهای دمشق متعاقب درمان با دوره‌ی نوردهی بلند، (Faigl et al., 2009) با استفاده از سه عدد ملاتونین کاشتنی در قوچ‌های نژاد آواسی و سوخته‌زاری و همکاران (۱۳۸۷) با استفاده از سه عدد ملاتونین کاشتنی در قوچ‌های نژاد شال در خارج از فصل تولیدمثل اثر معنی‌داری روی تحرک اسپرم مشاهده نکردند. غشای پلاسمایی اسپرم حاوی اسیدهای چرب غیراشباع است که حساسیت بالایی به پراکسیداسیون لیپید دارند (Casao et al., 2010a). از آنجائیکه سیتوپلاسم اسپرم فاقد آنتی‌اکسیدان است (El-Sisy et al., 2008) برای حمایت اسپرم از گونه‌های اکسیژنی بسیار فعال (ROS)^۱ بافت اپیتلیوم اپیدیدیم و غدد ضمیمه جنسی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و دیگر از بین برنده‌های رادیکال‌های آزاد ترشح می‌کنند (Casao et al., 2010a). در نتیجه سمینال پلاسما منبع غنی آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند سوپر اکسید دیسماتاز و کاتالاز است که اثر سمی پراکسید هیدروژن و آنیون سوپراکسید را خنثی می‌کنند (El-Sisy et al., 2008). پراکسیداسیون لیپید موجب آسیب به غشاء، به ویژه در ناحیه آکروزوم می‌شود که در نتیجه‌ی این آسیب، تحرک و زنده‌مانی اسپرم کاهش می‌یابد (Ramadan et al., 2009). گزارش شده است فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در سمینال پلاسمای قوچ تغییرات فصلی نشان می‌دهد، به طوری که این تغییرات در داخل فصل تولیدمثل بیشتر از خارج فصل تولیدمثل است و دیگر اینکه ارتباطی قوی بین ملاتونین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در سمینال پلاسمای قوچ وجود دارد که بیانگر تنظیم فصلی فعالیت این آنزیم‌ها از طریق ملاتونین است (Casao et al., 2010a). از طرف دیگر، خصوصیت آنتی‌اکسیدانی ملاتونین در شرایط *In Vitro* و *In Vivo* به اثبات رسیده است. مطالعاتی که به اثر آنتی‌اکسیدانی ملاتونین روی اسپرماتوزوآ پرداخته‌اند، کاهش معنی‌داری را در پراکسیداسیون لیپید اسپرم گزارش کرده‌اند و اعلام نمودند که ملاتونین به واسطه پتانسیل آنتی‌اکسیدانی خود می‌تواند میتوکندری اسپرم را از آسیب‌های ایجاد شده به وسیله ROS حفظ کند (Ramadan et al., 2009). بعلاوه گزارش شده که کاشت ملاتونین توانایی انجماد منی قوچ را به سبب خصوصیت آنتی‌اکسیدانی و اثر حفاظتی آن در برابر آسیب‌های اکسیداتیو بهبود می‌بخشد (Ramadan et al., 2009). بنابراین علاوه بر اثر ملاتونین در تولید و تنظیم فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، این هورمون توانایی بالایی در کاهش استرس‌های اکسیداتیو داشته و می‌تواند از اثرات سمی راکتیوهای اکسیژن در سمینال پلاسما جلوگیری کند. در نتیجه می‌توان گفت که تفاوت در کیفیت اسپرم قوچ ممکن است به وسیله حضور ملاتونین در سمینال پلاسما به همراه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تنظیم شود که این عوامل مانع آسیب‌های اکسیداتیو اسپرماتوزوآ می‌شوند (Casao et al., 2010a).

۱ Reactive Oxygen Species

به تحقیقات دیگر، اختلاف نژادی و اثرات تغذیه‌ای اعلام کردند. اندازه‌گیری‌های مربوط به بیضه، به عنوان شاخصی برای تعیین وضعیت تولیدمثلی و ظرفیت اسپرم‌سازی نشخوارکنندگان کوچک مانند قوچ و بز نر بکار می‌رود (Roca et al., 1991). گزارش شده است که پیشرفت توسعه بیضه در نتیجه‌ی ملاتونین درمانی، به سبب اثر ملاتونین روی تولیدکننده‌های پالس هیپوتالاموسی برای افزایش فرکانس پالس LH است. به عبارت دیگر ملاتونین با افزایش فرکانس LH موجب پیشرفت توسعه بیضه می‌شود (Webster et al., 1991). همچنین تحقیقات نشان داده است اندازه‌ی بیضه تقریباً از الگوی مشابه با غلظت تستوسترون خون پیروی می‌کند و اینکه نوسانات فصلی در اندازه‌ی بیضه و ترشح تستوسترون، تحت تاثیر غلظت LH خون قرار می‌گیرد. به‌ویژه افزایش تعداد پیک LH از خارج فصل تولیدمثل به داخل فصل در ۹۶/۴ درصد همزمان با پیک تستوسترون رخ می‌دهد (Dufour et al., 1984). گزارش شده است درمان قوچ‌ها با ملاتونین کاشتنی طی روزهای بلند، توسعه بیضه را تحریک می‌کند (از مکانیسمی مشابه روزهای کوتاه تقلید می‌کند) (Kaya et al., 2000).

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس این تحقیق بطور کلی می‌توان گفت استفاده از یک و دو عدد ملاتونین کاشتنی داخل فصل تولید مثل اثر معنی‌داری روی SC و عوامل کیفی و کمی اسپرم نداشت. در حالی که استفاده از دو عدد ملاتونین کاشتنی در خارج از فصل تولیدمثل اثر معنی‌داری روی SC و تحرک پیشرونده اسپرم قوچ‌های تالشی داشت.

استفاده از یک و دو عدد ملاتونین کاشتنی در خارج از فصل تولیدمثل اثر معنی‌داری روی حجم منی و غلظت اسپرم نداشت. در تحقیقات (Kaya et al., 2000) در قوچ‌های نژاد کونیا مرینو، (Ramadan et al., 2009) در بزهای نژاد دمشقی، (Faigl et al., 2009) در قوچ‌های نژاد آواسی و سوخته‌زاری و همکاران (۱۳۸۷) در قوچ‌های نژاد شال، کاشت ملاتونین در خارج از فصل تولیدمثل اثر معنی‌داری روی حجم و غلظت اسپرم نداشت. استفاده از سه عدد ملاتونین کاشتنی در خارج فصل تولیدمثل اثر معنی‌داری روی حجم و غلظت اسپرم بزهای مدیرانه‌ای داشت که دو دلیل برای آن ذکر شد، دلیل اول اینکه دوره زمانی که بیضه‌ی بزهای تحت درمان، حداکثر اسپرم را تولید می‌کنند طولانی‌تر می‌شود و دلیل دوم اینکه ملاتونین کاشتنی تبدیل اسپرماتوگونی A0 را به اسپرماتوگونی A1 در نتیجه افزایش ترشح FSH و افزایش حساسیت سلول‌های لیدیگ به LH تحریک می‌کند (Zarazaga et al., 2009).

استفاده از دو عدد ملاتونین کاشتنی، SC در خارج از فصل تولیدمثل را به طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد افزایش داد. استفاده از سه عدد ملاتونین کاشتنی در خارج فصل تولیدمثل محیط بیضه قوچ‌های نژاد راسا آراگونزا را به طور معنی‌داری افزایش داد (Palacin et al., 2008). همچنین گزارش شده است که ملاتونین درمانی بزهای دمشقی متعاقب درمان با دوره‌ی نوردهی بلند در خارج فصل تولیدمثل اثر معنی‌داری روی حجم نسبی بیضه نداشت (Ramadan et al., 2009). سوخته‌زاری و همکاران (۱۳۸۷) گزارش کردند استفاده از سه عدد ملاتونین کاشتنی در خارج فصل تولیدمثل اثر معنی‌داری روی SC قوچ‌های نژاد شال نداشت. آنها دلیل این نتیجه را نسبت

فهرست منابع

- سوخته زاری، ع.، وجگانی، م.، و نیاسری نسلجی، ا. ۱۳۸۷. بررسی تاثیر ملاتونین روی قطر بیضه و پارامترهای منی در فصل غیر جفت‌گیری در قوچ نژاد شال. تحقیقات دامپزشکی، ۵: ۲۹۷-۳۰۰.
- طباطبایی، م.، عربی، ح.، حسینی سیر، س. ع.، و احمدی، ا. ۱۳۸۶. اثر فصل بر توانایی تولیدمثلی سالیانه قوچ مهربان در منطقه همدان. علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ۵: ۱۶۱-۱۶۸.
- علیجانی، ب. ۱۳۷۴. آب و هوای ایران. انتشارات دانشگاه پیام نور. صفحه ۲۲۸.

- Casao, A., Cebrian, I., Asumpcao, M. E., Perez-Pe, R., Abecia, J. A., Forcada, F., Cebrian-Perez, J. A. and Muino-Blanco, T. 2010a. Seasonal variations of melatonin in ram seminal plasma are correlated to those of testosterone and antioxidant enzymes. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 8(59): 1-9.
- Casao, A., Mendoza, N., Perez-Pe, R., Grasa, A., Abecia, J. A., Forcada, F., Cebrian-Perez, J. A. and Muino-Blanco, T. 2010b. Melatonin prevents capacitating and apoptotic-like changes of ram spermatozoa and increases fertility rate. *Journal of Pineal Research*, 48: 39-46.
- Casao, A., Vega, S., Palacin, I., Perez-Pe, R., Lavina, A., Quintin, F. J., Seville, E., Abecia, J. A., Cebrian-Perez, J. A., Forcada, F. and Muino-Blanco, T. 2010c. Effects of melatonin implants during non-breeding season on sperm motility and reproductive parameters in Rasa Aragonesa rams. *Reproduction in Domestic Animals*, 45: 425-432.
- Dufour, J. J., Fahmy, M. H. and Minvielle, F. 1984. Seasonal changes in breeding activity, testicular size, testosterone concentration and seminal characteristics in rams with long or short breeding season. *Journal of Animal Science*, 58: 416-422.
- El-Sisy, G. A., El-Nattat, W. S. and El-Sheshtawy, R. I. 2008. Effect of superoxide dismutase and catalase on viability of cryopreserved buffalo spermatozoa. *Global Veterinaria*, 2: 56-61.
- Evans, G. and Maxwell, W. M. C. 1987. *Salmon's artificial insemination of sheep and goats*. Butterworths, Sydney.
- Faigl, V., Keresztes, M., Kulcsar, M., Nagy, S., Keresztes, Z., Amiridis, G. S., Solti, L., Huszenicza, G. and Cseh, S. 2009. Testicular function and semen characteristics of awassi rams treated with melatonin out of the breeding season. *Acta Veterinaria Hungarica*, 57: 531-540.
- Kaya, A., Baspinar, N., Yildiz, C., Kurtoglu, F., Ataman, M. B. and Haliloglu, S. 2000. Influence of melatonin implantation on sperm quality, biochemical composition of the seminal plasma and plasma testosterone levels in ram. *Revue de Medecine Veterinaire*, 12: 1143-1146.
- NRC. 1985. *Nutrient Requirements of Sheep*. 6th. ed. National Academy Press. Washington, D.C.
- Palacin, I., Abecia, J. A., Forcada, F., Casao, A., Cebrian, J. A., Muino, T., Palacios, C. and Pontes, J. M. 2008. Effects of exogenous melatonin treatment on out of season ram fertility. *Animal Science*, 7: 199-206.
- Ramadan, T. A., Taha, T. A., Samak, M. A. and Hassan, A. 2009. Effectiveness of exposure to long day followed by melatonin treatment on semen characteristics of Damascus male goats during breeding and non-breeding seasons. *Theriogenology*, 71: 458-468.
- Roca, J. E., Martinez, Vazquez, J. M., Ruiz, S. and Coy, P. 1991. Influence of season on testicle size and libido in male goats from the Mediterranean area. *Animal Production*, 52: 317-321.
- SAS. 1996. *SAS/STAT User's Guide (Release 6.12)*. SAS Inst. INC., Cary, Nc.
- Webster, J. R., Suttie, J. M., Veenvliet, B. A., Manley, T. R. and Littlejohn, R. P. 1991. Effect of melatonin implants on secretion of luteinizing hormone in intact and castrated rams. *Journal of Reproduction and Fertility*, 92: 21-31.
- Zarazaga, L. A., Gatica, M. C., Celi, I., Guzman, J. A. and Malpoux, B. 2009. Effect of melatonin implants on sexual activity in Mediterranean goat females without separation from males. *Theriogenology*, 72: 910-918.



Effect of melatonin on sperm quality of Taleshi ram during breeding and non-breeding seasons

S. Ghiami¹, M. Mohammadi^{2*}, M. Roosataei-Ali Mehr², F. Talebi³

1. MS. graduated student, Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

2. Associate professor, Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

3. Staff Member, Jihad Agriculture Organization of Guilan Province, Rasht, Iran

(Received: 10-6-2014 – Accepted: 9-5-2015)

Abstract

In this study, nine Taleshi rams (approximately 3 years old and average BW was 55.6 ± 1.57 kg) were selected randomly and allocated into three groups to investigate the effect of melatonin (regulin) on sperm during breeding and non-breeding seasons. The first group (control) did not receive any regulin, the rams of second group received one regulin and finally, the third group received two regulins subcutaneously at the same time. Scrotal circumference (SC), semen volume, sperm concentration, sperm motility and sperm viability of all rams were measured on day zero (regulin implantation day). Scrotal circumference was measured 45 days after regulin implantation and semen volume, sperm concentration, sperm motility and viability were measured 46, 50, 54 and 58 days after regulin implantation. The results indicated that the use of regulin had not any significant effect on the SC and sperm quantity and quality parameters during breeding season ($P > 0.05$). The SC and motility were increased by using two regulins during non-breeding season and this improved sperm viability in comparison to control group ($P < 0.05$). Whereas, the use of regulin had not significant effect on semen volume and sperm concentration ($P > 0.05$). It is concluded that improvement in the ram semen quality was expected with the use of two regulins during non-breeding season.

Keywords: Breeding and non-breeding season, Taleshi ram, Sperm quality, Melatonin

*Corresponding author: mohammadi@guilan.ac.ir